

Ciudad de México, **10 ABR 2020**

Oficio No. DGE-DSAT-03388 -2020

Asunto: Informe de evaluación comparativa preliminar.

Federico Guillermo Lozano Blackaller

Director General

Kabla Comercial, S.A. de C.V.

Loma Blanca 2900, Col. Deportivo Obispedo

D.T. Nuevo León 64040, Monterrey.

Presente

En respuesta a su atenta solicitud de fecha 24 de marzo de 2020, para la evaluación del producto **"VIASURE SARS-CoV-2 Real Time PCR Detection Kit"**, con números de catálogo: VS-NCO206L, VS-NCO206H, VS-NCO212L, VS-NCO212H, VS-NCO213L, VS-NCO213H, VS-NCO236, VS-NCO272, fabricados por CerTest Biotec, S.L. en Pol. Industria Río Gállego II, Calle J., No. 1 50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza, España, se expide el siguiente resultado.

Procedimiento de Evaluación.

Para verificar el desempeño analítico del producto **"VIASURE SARS-CoV-2 Real Time PCR Detection Kit"** (véase Foto 1), ensayo de PCR diseñado para la identificación y diferenciación específica del Nuevo Coronavirus 2019 (SARS-CoV-2) en muestras clínicas procedentes de pacientes con signos y síntomas de COVID-19, se utilizaron muestras positivas a diferentes virus respiratorios para verificar la especificidad analítica. La verificación del límite de detección se realizó utilizando un extracto de RNA total cuantificado (con carga viral determinada) y obtenido a partir de una muestra positiva al virus SARS-CoV-2 empleando el producto con número de catálogo: VS-NCO212LRUO y el equipo Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System.

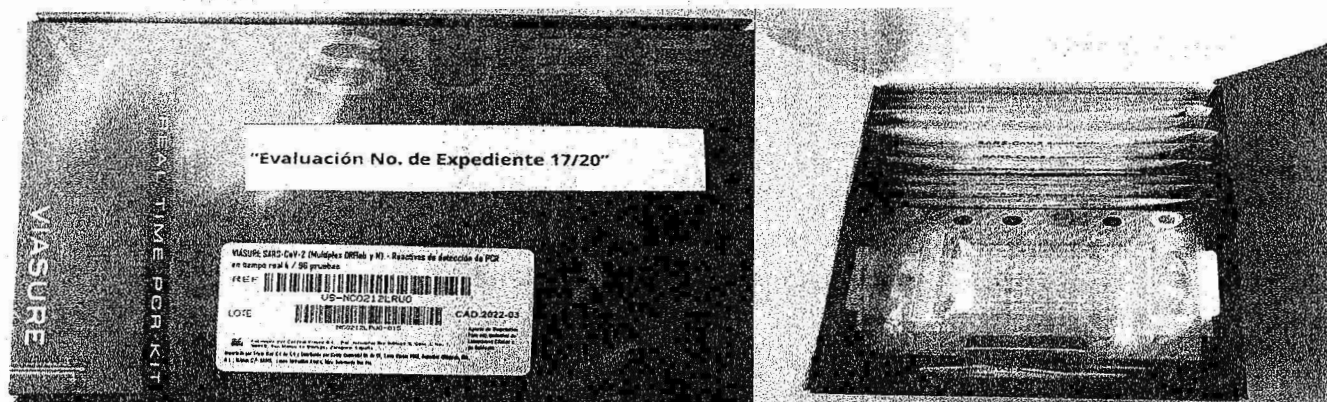


Foto 1. Estuche de Diagnóstico VIASURE SARS-CoV-2 Real Time PCR Detection Kit.



El producto "VIASURE SARS-CoV-2 Real Time PCR Detection Kit" realiza la detección a través de la retro transcripción y posterior amplificación a tiempo real de la secuencia diana, produciéndose ambas reacciones en el mismo pocillo. Tras el aislamiento del RNA, se sintetiza el DNA complementario a la secuencia diana gracias a la retrotranscriptasa o transcriptasa inversa. Posteriormente la identificación de SARS-CoV-2 se lleva a cabo mediante la reacción en cadena de la polimerasa utilizando oligonucleótidos específicos y una sonda marcada con fluorescencia que hibridan con una región diana conservada de los genes *ORF1ab* y *N*. VIASURE SARS-CoV-2 Real Time PCR Detection Kit" aprovecha la actividad de la 5' exonucleasa de la DNA-polimerasa. Durante la amplificación del DNA, esta enzima hidroliza la sonda unida a la secuencia de DNA complementaria, separando el fluoróforo del *quencher*. Esta reacción genera un aumento en la señal fluorescente proporcional a la cantidad de RNA diana. Esta fluorescencia se puede monitorizar en equipos PCR a tiempo real.

Resultados del Desempeño analítico.

Sensibilidad (límite de detección).

Se analizaron diferentes concentraciones del extracto de RNA cuantificado, utilizando tres réplicas por cada valor de concentración. El análisis fue hecho por el mismo operador usando el mismo lote de reactivos (NCO-212LRUO-015), de forma similar al experimento descrito en la página 3 del inserto de la prueba. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Tabla 1. Verificación de la sensibilidad

	Resultado esperado		Resultado observado	
	Concentración	Positivos / total de réplicas	Concentración	Positivos / total de réplicas
Blanco				
Gen E viral	10 copias / reacción	3 / 3 (100%)	10 copias / reacción	3 / 3 (100%)

Especificidad.

Se utilizaron 16 extractos de ácidos nucleicos obtenidos de muestras clínicas y cultivos positivos a diferentes virus respiratorios. Los resultados fueron los siguientes:



Tabla 2. Verificación de la especificidad

Clave	Origen	Resultado de la técnica estándar del InDRE	Resultado VIASURE SARS-CoV-2 Real Time PCR Detection Kit
1423*	Muestra clínica	Parainfluenza 4	Negativo
1559	Muestra clínica	Coronavirus OC43	Negativo
1565	Muestra clínica	Enterovirus/Rhinovirus	Negativo
1576	Muestra clínica	Virus Sincicial Respiratorio	Negativo
1600	Muestra clínica	Metapneumovirus	Negativo
1611	Muestra clínica	Coronavirus NL63	Negativo
1684	Muestra clínica	Parainfluenza 3	Negativo
1720	Muestra clínica	Coronavirus HKU1	Negativo
1741	Muestra clínica	Virus Sincicial Respiratorio	Negativo
1746	Muestra clínica	Enterovirus/Rhinovirus, Bocavirus	Negativo
12 Bh	Cultivo	<i>Bordetella holmesii</i>	Negativo
13 Bpp	Cultivo	<i>Bordetella parapertussis</i>	Negativo
14 Bp	Cultivo	<i>Bordetella pertussis</i>	Negativo
4282	Cultivo	<i>Haemophilus influenzae</i> tipo B	Negativo
4285	Cultivo	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Negativo

Repetibilidad intraensayo.

Se analizaron diferentes concentraciones del extracto de RNA cuantificado, utilizando cuatro réplicas en un análisis hecho por el mismo operador, con el mismo lote de reactivos (NCO-212LRUO-015). Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Tabla 3. Verificación de la repetibilidad

Marcador genético viral	Concentración	Positivos / réplicas	% Positivos
ORFlab	10,000 copias / reacción	4 / 4	100%
	1,000 copias / reacción	4 / 4	100%
	100 copias / reacción	4 / 4	100%
	10 copias / reacción	4 / 4	100%
	10,000 copias / reacción	4 / 4	100%
N	1,000 copias / reacción	4 / 4	100%
	100 copias / reacción	4 / 4	100%
	10 copias / reacción	4 / 4	100%



Comentarios Finales.

- La prueba carece de un control interno endógeno (detección de un gen humano), por lo que un resultado interpretado como "negativo" no permite garantizar la toma, conservación e integridad de la muestra.
- Se observó concordancia entre los valores de límite de detección, especificidad y repetibilidad intraensayo declarados por el fabricante y los obtenidos experimentalmente.

Validez.

Esta evaluación es provisional en apoyo a la emergencia por la pandemia de la enfermedad COVID-19, declarada por la OMS el día 11 de marzo del 2020, y será válida únicamente durante la duración de la misma. Al término de ésta, la validez de esta evaluación quedará automáticamente cancelada y será necesario realizar una evaluación completa para uso posterior.

Sin otro particular, reciba un cordial saludo.

Atentamente

Directora de Servicios y Apoyo Técnico del InDRE

Directora de Diagnóstico y Referencia del InDRE

M. en G.S. Lucía Hernández Rivas

Biol. Irma López Martínez

C.c.p.

Biol. Irma López Martínez. Directora de Diagnóstico y Referencia del InDRE.
Dr. Noé Escobar Escamilla. Jefe del Laboratorio de Laboratorio de Transferencia de Métodos Moleculares del InDRE.
MIBB. Hiram Olivera Díaz. Coordinador del Área de Enfermedades Emergentes y Urgentes del InDRE.
Dr. José Ernesto Ramírez González. Encargado de la Unidad de Desarrollo Tecnológico e Investigación Molecular del InDRE.

Sección/Serie: 6S.17

LHR/ILM/NEE/HOD/JERC/mgm*/cgp*